FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1970 **THÈSE** N° 978

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Marie-José SOCKEEL

Née le 24 Septembre 1942, à Nesles-la-Vallée (95)

Présentée et soutenue publiquement le 197

RECHERCHE DE CELLULES CARCINOMATEUSES CIRCULANT DANS LE SANG (OU HEMOCARCINOGRAMME)

*

INDICATIONS ET VALEUR

Président : M. J. DE BRUX, Professeur

IMPRIMERIE
R. FOULON & Cie
29, Rue Deparcieux, 29
PARIS — 1970

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544316_0105

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1970 **THÈSE** N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Marie-José SOCKEEL

Née le 24 Septembre 1942, à Nesles-la-Vallée (95)

Présentée et soutenue publiquement le 197

RECHERCHE DE CELLULES CARCINOMATEUSES CIRCULANT DANS LE SANG (OU HEMOCARCINOGRAMME)

*

INDICATIONS ET VALEUR

Président : M. J. DE BRUX, Professeur

IMPRIMERIE
R. FOULON & Cie
29, Rue Deparcieux, 29
PARIS — 1970

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA MÈRE

A MES FRÈRES ET SŒURS

A MON ONCLE

LE DOCTEUR J. CAILLEUX

A MA FAMILLE

A MES AMIS

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR J. DE BRUX

Professeur à la Faculté de Médecine de Paris

Qui m'a fait le très grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse dont il a bien voulu me confier le sujet après m'avoir accordé le privilège d'être son élève.

Avec mes sincères remerciements et ma respectueuse considération.

A Monsieur G. DURAND

Pharmacien Biologiste

En hommage respectueux et très reconnaissant à sa haute compétence et à ses travaux vers lesquels il a bien voulu m'orienter.

Avec toute ma gratitude.

A Monsieur le Docteur J. DEROUT

Qui m'a aimablement guidée et conseillée.
Avec mon amitié et ma grande reconnaissance.

A TOUS CEUX QUI ONT PARTICIPÉ
A MA FORMATION MÉDICALE

PLAN GENERAL DE LA THESE

Introduction

Chapitre I : Historique et technique

Chapitre II : Pourcentage global

- *a*) Pourcentage global obtenu dans le Service
- *b*) Comparaison avec les différents auteurs
- *c*) Discussion de variation de pourcentage en rapport avec la technique utilisée
- *d*) Discussion de la variation de pourcentage en rapport avec la rigueur des critères cytologiques de malignité utilisés
- *e*) Modifications sanguines associées

Chapitre III : Diffusion sanguine suivant le type histologique, le degré de différenciation et suivant la localisation

Chapitre IV : Diffusion sanguine en rapport avec le traitement

Conclusion

- *a*) Indications de la méthode
- *b*) Améliorations techniques

Bibliographie

INTRODUCTION

Depuis toujours les biologistes, et en particulier les anatomo-pathologistes et les cytologistes, se sont efforcés de mettre au point des méthodes de dépistage dont le prélèvement serait aisé ; le milieu sanguin répondant à cette condition, il était normal que l'on pensât à y chercher des cellules carcinomateuses ; d'autre part, on pouvait penser qu'il pouvait être le milieu véhiculant les cellules migratrices, génératrices de métastases. Ce fut le point de départ de nombreux travaux concernant la leucoconcentration.

CHAPITRE I

HISTORIQUE

La notion d'une diffusion sanguine de cellules tumorales à l'origine des métastases est apparue au milieu du XIX[e] siècle, dès que le concept d'une dissémination secondaire fut élaboré.

Cruveilhier, en 1829, relie l'invasion tumorale des vaisseaux sanguin au développement de métastases lointaines par l'intermédiaire d'un « jus cancéreux » spécifique élaboré par la tumeur et véhiculé par le sang ; idée reprise par Recklinghausen, en 1891. qui suggéra la présence dans le sang des cancéreux de cellules malignes libres et d'embolies.

En 1869, Ashworth, étudiant un cas de tumeurs multiples et malignes de la peau, mit en évidence dans le sang du malade décédé des cellules cancéreuses de même type que celles qui avaient été trouvées au niveau des tumeurs cutanées.

(Sur une reprise de sa description originale, il pourrait être permis d'être sceptique quant à la malignité de ces cellules.)

Depuis lors, de telles communications sont apparues de temps en temps dans la littérature médicale.

En 1934, Pool et Dunlop font une des premières études systématiques sur le sang veineux périphérique et quelquefois sur le sang de l'artère fémorale et du ventricule gauche, immédiatement après la mort des malades. Là encore, les auteurs ne purent apprécier avec certitude la malignité des cellules prélevées.

Brown et Warren en 1938, Dukes et Bussey en 1941, Seefield et Bargen en 1943, poursuivant des études anatomiques très pous-

sées sur des malades décédés à la suite de cancers digestifs, retrouvent toujours cette tendance à l'invasion veineuse par les cellules cancéreuses (qui sera étudiée de manière encore plus approfondie par Barringer, en 1954) et remarquent que cette invasion est d'autant plus importante que la dédifférenciation cellulaire est plus grande.

Utilisant la technique de Papanicolaou pour la fixation et la coloration, Cole-Packard et Southwick, en 1954, démontrent la présence de cellules carcinomateuses dans le liquide perfusé dans les artères au cours de la chirurgie pour cancer colique.

R. Fisher et Turnbull, en 1955, rapportent des observations similaires au cours de la chirurgie rectocolique.

Avec Engell, en 1955, la recherche de cellules cancéreuses dans le sang périphérique de sujets vivants n'est plus une méthode d'exception, et depuis lors plus fréquemment employée. Ce même auteur montre que les cellules sont capables de passer au travers des capillaires pulmonaires, hépatiques et périphériques, et susceptibles d'être identifiées dans le sang.

Moore-Sandberg et Schubarg, en 1957, confirment ces travaux et identifient des cellules tumorales d'épithélioma bronchiques mammaires et gastro-intestinaux.

En 1958-1959, Robert et collaborateurs, Pruitt-Hilberg et Kaiser, Fletcher et Stewart, trouvent des cellules malignes en pourcentage variable.

Parallèlement à ces travaux avec les progrès récents de la cytologie, un regain d'intérêt pour la recherche des cellules cancéreuses est noté, et les techniques d'examen du sang deviennent plus nombreuses et s'améliorent.

En particulier, Vallée-Hughes et Gibson, en 1947, décrivent une méthode de séparation de leucocytes et hématies basée sur leur différence de vitesse de sédimentation qui sera reprise par la suite.

Seal, en 1956, introduit l'emploi des silicones et des filtres millipores pour recherche des cellules tumorales, technique qui sera modifiée et simplifiée par de nombreux auteurs dont Malmgren et Leroy-Long.

En 1960, R. et H. Herbeuval, décrivant et travaillant sur la méthode des leucoconcentrations, arrivent à la conclusion :

« Qu'il existait à côté des cellules tumorales indiscutables, toute une population cellulaire dont la signification n'est pas toujours bien connue. De plus, la nécessité d'utiliser des techniques hautement spécifiques basées sur l'immunologie, a fait apparaître des perspectives d'avenir considérables. »

C'est dans cette ligne de conduite que MM. G. Durand et J. Derout ont tenté d'améliorer cette méthode : d'abord en établissant une codification rigoureuse des critères cytologiques de malignité. Ensuite, en essayant de perfectionner la méthode des leucoconcentrations à l'aide d'une méthode d'immunofluorescence à base de sérums antiorganes permettant une identification plus spécifique et plus rapide des cellules carcinomateuses.

Enfin en 1967, S. Foussereau, D. Rodier et E. Philippe, de la Faculté de Médecine de Strasbourg, publient dans les *Annales d'Anatomie Pathologique*, un travail réalisé sur la cytémie cancéreuse portant sur 903 échantillons de sang périphérique.

Ils arrivent à un chiffre de 15 % de résultats positifs. Ils concluent d'ailleurs que la cytémie est apparemment liée au type et au siège de la tumeur, et que la présence de cellules carcinomateuses dans le sang n'implique pas forcément la formation de métastases.

TECHNIQUE

Des techniques variées ont été utilisées pour séparer les leucocytes et les cellules malignes des autres cellules sanguines. Nous avons classé les principales méthodes en trois groupes :

1) Méthodes utilisant des agents physiques.

2) Méthodes utilisant des agents chimiques.

3) Méthode des filtres millipores.

1) Méthodes utilisant des agents physiques

D'abord, nous avons des méthodes de séparation par différence de densité.

Ainsi Vallée-Hughes et Gibson font une séparation des cellules nucléées d'avec les hématies par un liquide de densité intermédiaire : l'albumine bovine diluée amenée à d = 1,079.

Seal utilise une méthode complexe, faisant dans un premier temps une séparation par différence de densité des cellules cancéreuses au-dessus d'une couche de densité 1,075.

D'autres auteurs utilisent des méthodes physiques basées sur l'accélération de la vitesse de sédimentation par diverses substances.

Par exemple, Buckley-Powel et Gibson, Moore, Sandberg et Schubarg emploient le fibrinogène bovin ; Lebrun, Kourilsky et Delaunay, le polyvinylpyrolidone.

Certains auteurs, tels Roberts et collaborateurs, font la synthèse de ces deux procédés : séparation des cellules tumorales d'avec les cellules sanguines normales par différence de densité (milieu de séparation = solution d'albumine bovine purifiée) après sédimentation des hématies par le fibrogène bovin.

2) Méthodes utilisant des agents chimiques
Méthodes d'hémolyse par différentes substances

A) Par la saponine

I) Technique d'Herbeuval (principe) :

« Dilution du sang, dès son prélèvement, par une solution saline anticoagulante neutre, isotonique et légèrement fixatrice, le pouvoir fixateur de cette solution conservatrice est suffisant pour bloquer les réactions enzymatiques des cellules, mais a été réglé expérimentalement pour ne pas empêcher la lyse des hématies qui sera faite ultérieurement. Le mélange fixateur associe un oxydant (l'acide picrique) et un réducteur (le formol) dans des proportions telles qu'il ne modifie pas les affinités tinctoriales naturelles vis-à-vis du Giemsa.

— Hémolyse par une solution hydroalcoolique, neutre, de saponine.

— Nouvelle addition de la solution conservatrice pour stopper l'hémolyse, neutraliser un excès possible de saponine et renforcer la préservation des cellules nucléées. »

Nous avons utilisé *la technique de R. et H. Herbeuval modifiée et améliorée par G. Durand.*

Principe : permet d'étudier sous un faible volume un très grand nombre de cellules. Les hématies sont éliminées par lyse tout en conservant la structure des éléments nucléés. 5 ml d'un sang de richesse globulaire moyenne contient 40.000.000 de leucocytes qui, par étalement, peuvent être répartis sur cinq lames. La technique que nous allons exposer est celle que nous utilisons et qui a été mise au point par le Professeur et Madame Herbeuval ; cette technique ayant été modifiée par M. G. Durand en y apportant plusieurs améliorations.

Mode opératoire :

1) *Prélèvement :*

Dans un flacon de 15 ml, on verse 10 cm^3 de la solution conservatrice dite de transport dilué. Cette solution conservatrice est obtenue à partir d'une solution mère à base de :

— ClNa
— KCl
— Phosphates Na et K
— CH_3CO_2Na

additionnés d'acide ascorbique, de glucose, de citrate de sodium (anticoagulant) et de polyvinylpyrrolidone. On y ajoute 5 cm^3 de sang prélevé par ponction veineuse en seringue. Ce mélange peut se conserver à la température ambiante plusieurs heures sans subir d'altérations, mais il est préférable de pratiquer l'hémolyse dès que possible.

2) *Hémolyse :*

Tous les réactifs utilisés doivent être chauffés quelques minutes à 37° (M. Durand). Ils ne doivent pas être utilisés à la sortie du frigidaire.

a) Vérifier que le pH de la solution hémolytique n'ait pas varié. On introduit cette solution dans la burette de Mohr.

b) Vider le contenu du flacon dans un bécher à bec de 400 ml. On rince le flacon avec 10 ml de la solution conservatrice diluée ; ce liquide de rinçage est ajouté au sang dilué contenu dans le bécher.

c) Verser goutte à goutte, au moyen de la burette, la solution hémolytique en imprimant au récipient contenant le sang un mouvement de rotation pour assurer le mélange. Toutes les dix gouttes, arrêter l'addition de la solution et continuer à agiter le récipient, car l'hémolyse continue et un excès de saponine serait nuisible à la qualité de la préparation.

Vérifier que l'hémolyse est correcte en portant une goutte de liquide entre lame et lamelle et en l'examinant au microscope (M. Durand), on doit avoir 4 à 5 hématies par champ seulement (grossissement 250). Pour arrêter l'hémolyse, ajouter de nouveau 10 ml de solution conservatrice diluée. Agiter modérément.

d) Centrifuger immédiatement pendant quinze minutes à 2.000 tours/minute. Vider le surnageant. Etaler le culot sur plusieurs lames (en général 5 lames). Sécher rapidement. Du séchage dépend la valeur des éléments.

Laisser vingt-quatre heures à la température du laboratoire.

3) *Fixation :*

Immerger les lames dans le liquide fixateur de Carnoy pendant dix minutes. Laver ensuite sous un jet d'eau courante pendant dix minutes. Sécher soigneusement (M. Durand).

4) *Coloration :*

a) Technique de Giemsa.

b) Technique d'hématoxyline-éosine de Harris.

II) Technique de Engell :

Engell utilise une hémolyse à la saponine après rejet du plasma sanguin et une coagulation du caillot final en employant du plasma recalcifié.

B) Hémolyse à la streptolysine O

Malmgreen et ses collaborateurs pratiquent une hémolyse à la streptolysine O après lavage au NaCl isotonique de sang, et finissent en filtrant sur filtres millipores.

3) Méthode des filtres millipores

En général, associée à l'une des techniques précédentes.

En particulier, on effectue une hémolyse des hématies telle qu'elle est décrite ci-dessus. Ensuite, au lieu de centrifuger, on passe le liquide à travers un filtre millipore sous une pression faible. On fixe le filtre et on effectue une coloration de Papanicolaou ou d'hématoxyline après avoir fait subir à l'ensemble filtre-prélèvement, une déshydratation progressive et un éclaircissement par le xylol. On monte en baume du Canada et on lit.

CHAPITRE II

POURCENTAGE GLOBAL

Etude comparative des différents résultats obtenus par la méthode des leucoconcentrations en carcinologie.

1) Résultats en pourcentage obtenus dans le Service d'Anatomie Pathologique de l'Hôpital Boucicaut

Nous avons appliqué la technique de l'hémocarcinogramme d'Herbeuval modifiée par M. G. Durand, sur le sang prélevé à différentes catégories de malades :

— Malades du Service de Pneumologie : les hémocarcinogrammes ont été effectués chez des malades atteints de carcinome broncho-pulmonaire confirmé par la biopsie positive.

— Malades d'O.R.L., cancéreux connus venant consulter pour adénopathies suspectes d'envahissement métastatique.

— En enfin chez quelques malades du Service de Chirurgie atteints de carcinomes divers, mais en majorité de l'appareil digestif.

Nos résultats peuvent être schématisés en un tableau général :

	Total	+	—	%
O.R.L.	51	19	32	37 %
Pneumologie	43	16	20 (7)	37 %
Chirurgie	9	6	3	66 %
Ensemble :	103	41	55 (7)	40 %

Ce tableau nous donne les pourcentages suivants :

— Malades d'O.R.L. ..... 37 %
— Malades de pneumologie ..... 37 %
— Malades de chirurgie ..... 66 %

D'où un pourcentage global de 40 %.

Par cette technique, chez les malades dont l'hémocarcinogramme est positif, nous avons trouvé une moyenne de trois cellules pathologiques par lame : cinq lames étant étudiées par malade, dont deux colorées à l'hématoxyline, trois au Giemsa.

2) Confrontation de nos résultats avec ceux des différents auteurs

Notre résultat se situe au milieu de l'échelle de pourcentage des différents auteurs américains.

Suivant les différentes statistiques, le pourcentage de résultats positifs varie en effet énormément selon les auteurs :

— Kuper-Bignall et Luckcock, en 1961, obtiennent un résultat de 80 % sur 36 cas.

— Par contre, Christopherson, en 1962, n'obtient qu'un pourcentage de 1 % sur 192 cas.

Ces écarts extrêmes peuvent s'expliquer de deux manières :
— d'une part la diversité des techniques utilisées ;
— d'autre part la rigueur de critères cytologiques.

3) Discussion de la variation des pourcentages en fonction de la technique utilisée

1) Le pourcentage de résultats positifs le plus fort (80 %) a été obtenu par Kuper-Bignall et Luckcock qui ont utilisé une méthode d'hémolyse à la saponine après adjonction de « carbonyl-iron ».

2) Par contre, le pourcentage le plus faible (5,7 % de résultats positifs) est tiré des travaux de Scheinin et Koivuniemi qui ont utilisé la technique de Malmgren à la streptolysine O.

3) Le pourcentage moyen entre les différents auteurs est de l'ordre de 40 %.

Engell (résultats 50 %) utilise une hémolyse à la saponine. Avec une même technique, les résultats sont donc sensiblement équivalents, notre pourcentage global étant de 40 %.

Conclusion :

Les variations de pourcentage selon la technique utilisée montrent la nécessité d'utiliser une technique bien définie, fidèle et rigoureuse.

Ces variations de pourcentage selon les différents auteurs peuvent s'expliquer de plusieurs façons :

— d'une part, le faible pourcentage peut être dû au faible nombre de lames lues ; par expérience, une seule lame par malade étant une étude très insuffisante ;

— d'autre part, le temps et la manière de lire les lames doivent être pris en considération. Chaque lame devant être lue et interprétée individuellement, balayée selon un ordre défini, nous repérons à l'objectif 25 les cellules nous paraissant suspectes, pour passer ensuite à l'objectif par immersion pour une identification plus précise. De plus, la réalisation de la technique au laboratoire (et en particulier l'étalement) doit être impeccable ;

— la densité cellulaire devant être très homogène, telle que les granulocytes neutrophiles et les lymphocytes aient un aspect identique à celui qui l'on rencontre sur les lames de sang normal.

4) Discussion de la variation du pourcentage en rapport avec la rigueur des critères cytologiques de malignité utilisés

De même que nous utilisons une technique rigoureuse de façon à avoir toujours la même qualité de prélèvements pour éviter les erreurs de diagnostic dues à une mauvaise technique, nous avons

tenté d'établir une codification précise des différents critères cytologiques de malignité.

Chaque critère étant affecté d'un coefficient.

Pour cela, nous étudions :

La taille : 3/10e.

Diagnostic différentiel : mégacaryocytes et cellules blastiques.

Le rapport nucléocytoplasmique : 2/10e.

Diagnostic différentiel : cellules immatures et cellules blastiques.

Affinité tinctoriale.

— Hyperchromatisme du noyau : 2/10e.

— Basophilie du cytoplasme : 2/10e.

Diagnostic différentiel : mégacaryocytes (hyperchromatiques) et les histiocytes macrophagiques.

Nucléoles : 3/10e.

Diagnostic différentiel : cellules blastiques jeunes.

Noyau boursouflé à structure chromatinienne irrégulière : 5/10e.

Diagnostic différentiel : plasmoblastes et érythroblastes où la chromatine se met parfois en mottes.

Inversement, il faut noter que certaines cellules carcinomateuses (indifférenciées et très actives) peuvent avoir un noyau très régulier et une chromatine fine.

Contour déchiqueté : 3/10e.

Diagnostic différentiel : histiocytes macrophagiques.

Clump : 5/10e.

Groupement de cellules de même nature présentant une certaine cohérence.

Diagnostic différentiel : placards endothéliaux.

Evaluation quantitative de la malignité

Aucun des critères histologiques étudiés précédemment ne suffit à lui-même pour affirmer la malignité d'une cellule. C'est l'ensemble de ces critères qui permet une certitude diagnostique.

D'après la somme des coefficients affectés à chacun des critères, nous avons divisé les cellules en trois groupes :

— *Inférieur :* 12/20e = cellules non pathologiques.
— *Supérieur :* 13 = cellules pathologiques.
— *Compris entre* 12 *et* 13 = groupe de cellules dystrophiques où les critères cytologiques ne sont pas suffisants pour affirmer en toute certitude la malignité de la cellule.

Il peut s'agir :

— soit de cellules sanguines ou de la moelle très modifiées et prenant un aspect suspect ;
— soit de cellules carcinomateuses où les caractères de malignité sont atténués.

Ce groupe hétérogène constitue un cadre de sécurité. Dans ce cas, nous répondons hémocarcinogramme suspect.

Remarque : on peut noter à ce sujet que nous avons plusieurs cas de malades venus consulter pour apparition d'adénopathies dont l'examen histologique ultérieur a montré la nature bénigne :

— soit qu'il s'agissait de tumeurs bénignes, en particulier de tumeurs mixtes de la parotide non suspectes de malignité ;
— soit d'adénites banales ou spécifiques

Dans tous les cas, les hémocarcinogrammes que nous avons pratiqués se sont révélés négatifs. Ce qui confirme la valeur des critères cytologiques que nous utilisons.

5) Modifications sanguines associées

Assez fréquemment, nous rencontrons :

— une réaction mégacaryocytaire que l'on peut considérer comme une réaction de défense de la moelle ;
— une réaction myéloproliférative ;
— une réaction histiomonocytaire.

Dans l'état actuel de notre travail, nous ne pouvons encore affirmer la signification exacte de chacune de ces réactions. La poursuite de notre travail permettra peut-être de préciser la signification précise de chacune de ces réactions. Actuellement, le polymorphisme du sang doit éveiller notre attention.

CHAPITRE III

DIFFUSION SANGUINE DES TUMEURS MALIGNES SUIVANT LE TYPE HISTOLOGIQUE, LE DEGRE DE DIFFERENCIATION ET LA LOCALISATION DE LA TUMEUR PRIMITIVE

A. — Suivant le type histologique

Nous avons déjà remarqué, lors de l'exposé précédent, que le pourcentage d'hémocarcinogrammes positifs sur les malades de pneumologie et d'O.R.L. était identique : 37 % de résultats positifs dans les deux cas.

Or nous savons que la majorité des tumeurs malignes provenant de ces deux localisations est de type épidermoïde, et afin de préciser la relation entre la diffusion sanguine et le type histologique de ces tumeurs, nous avons reclassé dans chaque groupe les malades suivant le type histologique de leurs tumeurs.

PNEUMOLOGIE

Classification suivant le type histologique

	Nombre de cas	+	—	*Suspects*	%
Epidermoïdes	27	9	14	4	40 %
Cylindriques	16	4	6	3	54 %

PNEUMOLOGIE (Professeur Meyer)

	Nombre de cas	+	—	*Suspects*	%
Hommes	36 + (3) = 39	13	19	7	32 %
Femmes (tous cylindriques)	4	3	1	—	75 %
Total :	43	16	20	7	37 %

O.R.L. (Professeur Leroux-Robert)

Tableau général

Total	+	—	%
51	19	32	37 %

Carcinomes épidermoïdes laryngés avec métastases ganglionnaires

Total	+	—	%
16	8	8	50 %

Carcinomes O.R.L., en dehors du larynx avec métastases ganglionnaires

	Total	+	—	%
Epidermoïdes	13	5	8	37 %
Cylindriques	4	3	1	75 %
Sarcomes	3	2	1	75 %

Tous cylindriques	*Cas*	+	—	%
Hommes	4	2	2	50 %
Femmes	5	4	1	80 %
Total :	9	6	3	66 %

Nous n'avons pas tenu compte des sarcomes dans notre travail, leur nombre étant insuffisant dans nos statistiques pour que l'on puisse en tirer des conclusions valables, les types histologiques étudiés sont donc :

— d'une part, les carcinomes épidermoïdes ;

— d'autre part, les carcinomes cylindriques dont la majorité est d'origine digestive et qui nous sont fournis principalement par les Services de Pneumologie et de Chirurgie Femme.

L'ensemble des tableaux précédents nous montre que le pourcentage moyen d'hémocarcinogrammes positifs pour les cancers épidermoïdes est de l'ordre de 33 à 40 % avec une moyenne générale de 37 % ; ce pourcentage moyen étant identique pour l'ensemble des carcinomes épidermoïdes, qu'ils soient d'origine pulmonaire ou O.R.L.

Quant aux carcinomes cylindriques, le pourcentage moyen s'élève à 75 % dans les trois services étudiés.

Pour l'ensemble des adénocarcinomes d'origine digestive

Nombre de cas	+	—	%
6	5	1	83 %

Si l'on tient compte seulement des adénocarcinomes d'origine digestive fournis par les Services de Chirurgie Homme et Femme, ce pourcentage s'élève à 83 % ; mais nous ne présentons ce résultat qu'avec réserve, en raison du faible nombre de cas étudiés.

A partir de ces différents statistiques, nous pouvons dire que :

— La diffusion sanguine des cellules carcinomateuses dépend du type histologique de la tumeur initiale :

— 37 % pour les carcinomes épidermoïdes ;

— 75 % pour les carcinomes cylindriques.

— Et que cette diffusion sanguine des cellules carcinomateuses est indépendante de l'organe pour un type histologique donné, soit par exemple 37 % de résultats positifs pour les carcinomes épidermoïdes, qu'ils soient d'origine pulmonaire ou issus de la sphère O.R.L.

B. — Suivant le degré de différenciation de la tumeur

Le groupe des carcinomes épidermoïdes d'origine pulmonaire chez les hommes nous a permis de faire cette étude et nous a donné les résultats suivants :

	Nombre de cas	+	—	*Suspects*	%
Epidermoïdes différenciés et matures	16	5*	9*	2	35 %
Epidermoïdes peu différenciés et peu matures	9	3*	4*	2	43 %
Epidermoïdes indifférenciés et anaplasiques à petites cellules	2	1*	1*	—	50 %

(* le % ne tient pas compte des cas suspects)

Ce tableau met en évidence le rapport existant entre le degré de dissémination des cellules carcinomateuses dans le sang circulant et le degré de différenciation de la tumeur ; cette diffusion étant inversement proportionnelle au degré de différenciation.

Résultats en accord avec les travaux de Engell, qui ne trouve pas de cellules cancéreuses circulantes dans le cas de tumeurs épidermoïdes très bien différenciées (grade I) :

— 33 % dans le cas de tumeurs assez bien différenciées (grade II);
— 72 % dans le cas de tumeurs peu différenciées (grade III);
— et 100 % dans le cas de tumeurs indifférenciées (grade IV).

Et de Grinnell :

— avec 25 % pour le « grade I » ;
— 34 % pour le « grade II » ;
— 100 % pour le « grade III ».

Ces variations de pourcentage suivant le degré de différenciation sont difficiles à expliquer. Cependant, on peut remarquer que dans tous les cas de prolifération maligne, le pouvoir d'infiltration et la possibilité de produire des métastases à distance sont plus élevés lorsque les tumeurs sont moins bien différenciées (et dont le pronostic est d'ailleurs plus sévère).

On peut remarquer également qu'il existe, tant dans les tissus sains que dans les tissus tumoraux, un antagonisme entre le pouvoir de multiplication et le pouvoir de différenciation. Toutes les tumeurs malignes débutant, en effet, par une phase de prolifération de cellules indifférenciées.

Ces considérations générales permettent peut-être d'expliquer en partie le plus fort pourcentage d'hémocarcinogrammes positifs quand il s'agit de malades atteints de tumeurs indifférenciées.

C. — Suivant le siège de la lésion primitive

Classement suivant le siège

	Siège	*Nombre de cas*	+	—	%
Larynx	Endolarynx	3	0	3	0
	Sinus piriforme ...	9	7	2	75 %
	Région épiglottique.	4	1	3	25 %
Cavité buccale	Amygdale	5	2	3	40 %
	Maxillaire et plancher	5	1	4	20 %
	Langue	2	1	1	50 %

Pour cette étude, c'est le groupe des malades O.R.L. qui nous a apporté les éléments nécessaires.

La première remarque pouvant être faite est le petit nombre de cas de chacun des groupes. Ceci nous empêchant d'en tirer des conclusions statistiques valables.

Cependant nous pouvons remarquer qu'en ce qui concerne le larynx proprement dit, la région du sinus piriforme nous donne le pourcentage le plus élevé et l'endolarynx le pourcentage le plus faible. Or, nous savons que les cancers du sinus piriforme envahissent très précocement les ganglions du voisinage (et en particulier le ganglion sous-digastrique), alors que le pronostic des carcinomes de la muqueuse endolaryngée est relativement bon.

De même, le pronostic des carcinomes de la cavité buccale est dans l'ensemble assez réservé, du fait même d'un envahissement ganglionnaire assez fréquent et précoce.

Le tableau suivant nous permet, malgré les réserves antérieures, de distinguer trois régions différentes dans la sphère O.R.L. où la diffusion sanguine semble directement en rapport avec la localisation anatomique :

— Endolarynx	0 %
— Cavité buccale et la loge pré-épiglottique ..	30 %
— La région du sinus piriforme	75 %

Afin de préciser cette étude, nous envisageons de compléter ce travail en étudiant systématiquement la diffusion sanguine de tous les malades d'O.R.L. ayant une biopsie positive.

En effet, seul un grand nombre de cas pourra nous permettre de confirmer ou d'infirmer les résultats précédents qui, pour l'instant, ne sont qu'une indication de recherches.

Pour préciser davantage ces résultats, il faudrait également voir s'il existe une corrélation satisfaisante entre le taux d'hémocarcinogrammes positifs et le taux de survie à cinq ans suivant la localisation tumorale.

CHAPITRE IV

DIFFUSION SANGUINE EN RAPPORT AVEC LE TRAITEMENT

PNEUMOLOGIE

	Nombre de cas	+	—	*Suspects*	%
Sous traitement	25	11*	8*	6	58 %
Après traitement (exérèse + chimiothérapie)	11	2*	9*	—	18 %

O. R. L.

	Nombre de cas	+	—	%
Avant traitement	17	10	7	58 %
Après traitement	24	10	14	41 %

Pour étudier les variations de pourcentage de la diffusion sanguine avant et après traitement, nous avons utilisé les deux groupes de malades des Services de Pneumologie et d'O.R.L. :

— d'une part, chez les malades avant tout traitement, les deux tableaux obtenus montrent le pourcentage ;

— d'autre part, chez les malades en cours ou après traitement anticancéreux :

— chirurgie ;

— radiothérapie ;

— ou chimiothérapie ;

suivant les cas.

Le tableau relatif aux malades du Service de Pneumologie met en évidence une différence de pourcentage très significative :

De 58 % chez les malades non traités, la diffusion sanguine tombe à 18 % après un traitement anticancéreux essentiellement chirurgical et chimiothérapique.

Quant aux malades du Service d'O.R.L., le pourcentage avant traitement est de 58 % ; on peut remarquer à ce sujet qu'il est rigoureusement identique à celui du groupe précédent, mais que la baisse de pourcentage après un traitement anticancéreux essentiellement chirurgical et radiothérapique est nettement moindre : 41 % (pour 18 % en pneumologie).

Cette différence de pourcentage dans le groupe O.R.L., bien que marquée, est nettement moins significative que dans le groupe précédent.

Il faut remarquer que les deux groupes de malades choisis, identiques quant au type histologique de la tumeur, ne sont cependant pas comparables au point de vue clinique. En effet, pour les malades de pneumologie, il s'agit de tumeurs primitives, les hémocarcinogrammes ayant été pratiqués dès la première biopsie positive.

Pour les malades d'O.R.L., il s'agit au contraire de patients venus consulter dans le service pour un envahissement ganglionnaire secondaire ; dans ce cas, les malades ont déjà été antérieurement traités pour la tumeur primitive et les hémocarcinogrammes sont pratiqués en même temps que les ponctions cytologiques des ganglions suspects d'envahissement.

D'après ces résultats, nous pouvons conclure :

— Que la méthode de l'hémocarcinogramme paraît être un moyen efficace pour contrôler l'activité de tout traitement anticancéreux.

Et nous pouvons déduire que les cellules carcinomateuses des tumeurs arrivées au stade d'envahissement ganglionnaire secondaire sont moins sensibles au traitement que les cellules provenant d'une tumeur initiale.

Nous avons également remarqué que, dans certains cas favorables chez les malades sous traitement chimiothérapique, on note une disparition très précoce des cellules carcinomateuses circulant dans le sang.

— Que d'autres cas, dès que l'on relâche le traitement, l'hémocarcinogramme met en évidence la reprise d'une diffusion sanguine des cellules néoplasiques.

— Et enfin que, chez certains malades, la diffusion sanguine des cellules persiste malgré la poursuite du traitement anticancéreux.

Tous ces faits nous amènent à conclure que des hémocarcinogrammes répétés chez les malades en cours de traitement anticancéreux peuvent apporter au clinicien des renseignements précieux sur l'activité et le contrôle des traitements. Nous pensons aussi qu'en plus des traitements classiques chirurgicaux et radiothérapiques, l'existence d'une diffusion carcinomateuse sanguine est peut-être l'indication d'un traitement chimiothérapique associé.

Nous contrôlons d'ailleurs actuellement, au moyen d'hémocarcinogrammes, un groupe de malades cancéreux traités uniquement par chimiothérapie. Bien que ce travail ne soit pas achevé, les résultats obtenus jusqu'ici semblent très encourageants.

CONCLUSION

I. — Indication de la méthode

L'objet de cette thèse est le résultat d'un travail de deux ans effectué à l'Hôpital Boucicaut portant sur un nombre assez élevé de cas ; il nous permet d'en tirer des conclusions significatives et d'envisager une exploitation plus complète de cette méthode. Dès maintenant, deux orientations principales peuvent être définies : le dépistage et le contrôle de l'efficacité des traitements anticancéreux.

A) Dépistage

Cette méthode paraît devoir être utilisée avec grand profit pour le dépistage du cancer chez les malades que l'on peut grouper en deux catégories :

— Les malades où l'examen clinique et radiologique évoque une prolifération carcinomateuse, mais où les examens histocytologiques classiques sont restés négatifs. Nous avons, en effet, des cas assez nombreux où l'hémocarcinogramme a seul pu faire la preuve d'une tumeur maligne. A la demande des cliniciens, nous utilisons cette méthode comme moyen de dépistage avancé.

— Les malades dont l'altération de l'état général fait suspecter un cancer, alors que tous les autres examens sont muets. Ce groupe de malades pourrait entrer dans un cadre plus général : celui du dépistage cytologique systématique.

B) Contrôle de l'efficacité des traitements anticancéreux

Nous pensons que cette méthode est susceptible d'apporter un complément d'informations intéressant le pronostic et la thérapeutique. La comparaison du délai de survie par rapport à la diffusion sanguine permettrait d'améliorer la connaissance de l'évolution de la maladie cancéreuse.

On peut penser également que toute tumeur maligne s'accompagnant d'une diffusion sanguine est susceptible d'un traitement chimiothérapique associé au traitement anticancéreux classique chirurgical et radiothérapique. Mais la deuxième indication de la méthode nous paraît essentiellement de contrôler la disparition ou la persistance de cellules carcinomateuses circulant dans le sang et, par suite, d'apprécier l'efficacité de tout traitement anticancéreux, quel qu'il soit, et de le modifier au besoin. Cette surveillance peut être réalisée par des hémocarcinogrammes répétés chez des malades en cours de traitement.

II. — Améliorations techniques

L'hémocarcinogramme, dans sa technique actuelle, comprend néanmoins deux inconvénients majeurs :

— la longueur de l'examen ;

— la difficulté d'affirmer avec une certitude absolue la malignité des cellules rencontrées et l'impossibilité de préciser leur origine.

R. et H. Herbeuval arrivaient à la même constatation et concluaient :

« Sur la nécessité d'utiliser des techniques hautement spécifiques basées sur l'immunologie qui fait apparaître des perspectives d'avenir considérables à cette méthode. »

Nous avons l'intention d'essayer de mettre au point deux techniques spécifiques qui permettraient de tirer tous les avantages possibles de l'hémocarcinogramme.

A) L'immunofluorescence

En utilisant la réaction antigène-anticorps révélée par la fluorescence, nous pensons pouvoir grandement améliorer la valeur de cette méthode.

D'une part, à l'aide de sérums anti-organes, notre but est d'identifier en toute certitude les cellules néoplasiques et, si possible, leur origine. La spécificité de cette technique permettant d'éliminer les cellules suspectes où la morphologie est insuffisante à elle seule pour affirmer leur nature maligne.

D'autre part, cette méthode permettrait une lecture beaucoup plus rapide des lames et l'on pourrait ainsi l'intégrer dans le cadre des examens cytologiques classiques.

B) Histoautoradiographie

Nous envisageons d'utiliser cette technique dans le cas des cancers thyroïdiens soumis à scintigraphie ou à traitement par isotopes radioactifs. Les malades atteints de cancers thyroïdiens avec diffusion sanguine décelee par un premier hémocarcinogramme seraient suivis à intervalles réguliers au cours du traitement par isotopes. Bien que, dans un cadre plus restreint, cette technique présente les mêmes avantages que l'immunofluorescence, à savoir la rapidité de lecture et surtout la spécificité.

Vu, le Doyen :
BROUET

Vu, le Président de Thèse :
DE BRUX

Vu et Permis d'imprimer,
le Recteur de l'Académie de Paris :
R. MALLET

BIBLIOGRAPHIE

ALEXANDER (R.F.) and SPRIGGS (A.I.). — The differential diagnosis of tumor cells in the blood. (*J. Clin. Path.*, 1960, **13**, 414.)

BARRINGER (P.L.), DOCKERTY (M.B.), WAUGH (J.M.) and BARGEN (J.A.). — Carcinoma of the large intestins ; a new approach to the study of venous spread. (*Surg. Gynec. Obstet.*, 1954, **98**, 62.)

BOUVIER (C.), MAURICE (P.A.) et ROCH (R.). — Nature des cellules normales trouvées dans le sang circulant en présence d'affections tumorales. (*Oncologie*, 1962, **15**, 129-139.)

BROWN (C.E.) and WARRENS. — Visceral metastasis from rectal carcinoma. (*Surg. Gynec. Obstet.*, 1938, **66**, 611.)

CHRISTOPHERSON (W.M.). — Report on blood cytology. (Washington D.C., janvier 1962.)

COLE (W.H.), MAC DONALD (G.O.) and ROBERTS (S.). — Dissemination of cancer and its prevention. (*J. Roy. Coll. Surg. Edinb.*, 1959, **4**, 218.)

COLOMBO (C.), MAGGI (G.) and ROLFOF. — The presence of neoplasic cells in the peripheral blood of patients with bronchial carcinoma. (*Minerva Med.*, 1958, **49**, 725.)

DELARUE (J.), ORCEL et MARSAN (C.). — Valeur et indications des méthodes cytologiques. (*Path. Biol.*, 1959, **73**, 9760.)

DUKES (C.E.) and BUSSEY (H.J.R.). — The spread of rectal cancer and its effect on prognosis. (*Brit. J. Cancer*, 1958, **12**, 309.)

DURAND (G.). — Leucoconcentration : méthode d'investigation carcinologique. (*Journal Méd. Orléanais*, 1967, **41**, 5-7.)

— Modifications à la technique de l'hémocarcinogramme. (*Rev. Cytol. Clin.*, 1968, **1**, 39-40.)

DURAND (G.) et MARTIN-LALANDE (J.). — L'hémocarcinogramme en carcinologie pulmonaire. (*Journal Franç. de Méd. et Chir. Thor.*, 1969, t. XXIII, n° 4, pp. 431-441.)

— Essais sur la recherche des cellules néoplasiques dans le sang circulant (hémocarcinogramme) en pratique pneumologique. Critères et comparaisons. (*Le Poumon et le Cœur*, 1969, t. XXV, n° 2.)

DURAND (G.), DEROUT (J.) et BRUX (J. DE). — I. Hémocarcinogramme. Coefficient cytologique de malignité (C.C.M.) et modifications malignes associées. II. Hémocarcinogramme. Corrélations cytocliniques. Indications de la méthode. (En préparation. A paraître dans la *Revue de Cytologie Clinique*.)

ENGELL (H.C.). — Sancer cells in the circulating blood. (*Acta Chir. Scand.*, 1955, suppl. 201, 1.)

— Cancer cells in the blood a five to nine year follow sep. study. (*Ann. Surg.*, 1959, **149**, 457.)

FESTING (P.). — Recherche des cellules néoplasiques dans le sang circulant chez des malades atteints d'hématosarcomes non leucémiques. (*Rev. Franç. Et. Clin. Biol.*, 1962, **7**, 1107.)

FISHER (E.R.) and TURNBULL (R.B.). — The cytologic demonstration and significance of tumour cells in the mesenteric veinous blood in patients with colorectal carcinoma. (*Surg. Gynec. Obstet.*, 1955, **100**, 102.)

FOUSSEREAU (S.), RODIER (D.) et PHILIPPE (E.). — La cytémie cancéreuse chez l'homme. (*Ann. d'Anat. Path.*, 1967.)

GRIFFITHS (J.D.) and SALSBURY (A.J.). — Circulating cancer cells (1965).

GRIFFITHS (J.D.). — The dissemination of cancer cells during operative procedures. (*Ann. Roy. Coll. Surg. Engl.*, 1960, **27**.)

GRINNELL (R.S.). — The grading and prognosis of carcinoma of the colon and rectum. (*Ann. Surg.*, 1939, **109**, 500.)

— Lymphatic and venous spread of carcinoma of rectum. (*Ann. Surg.*, 1942, **116**, 200.)

— Spread of carcinoma of the colon and rectum. (*Cancer*, 1950, **3**, 641.)

HERBEUVAL (R.) et HERBEUVAL (H.). — Cellules cancéreuses et insolites du sang circulant (1965).

HERRMANN. — The clinical significance of malignant tumour cells in the blood. (*J. Laryng.*, mai 1963, **77**, 381-389.)

Ishikawa-Fukushima and Huno (H.). — Observations of cancer cells in the blood of patients with carcinoma after operation and chemotherapy. (*Tohoka J. Exp. Med.*, octobre 1962, **78**, 25-31.)

Jackson (J.F.). — Histochemical identification of megacaryocytes from peripheral blood examined for tumor cells. (*Cancer*, 1962, **15**, 259-262.)

Kangas (S.) and Vicari (I.S.). — Cancer cells invasion of the blood of the pulmonary vein at operation for pulmonary cancer. (*Acta Chir. Scand.*, 1960, **119**, 463.)

Kierszenbaum (A.L.) and Tres (L.L.). — Differential diagnosis of megakaryocytes from cancer cells in peripheral blood. (*Acta Cytol.*, janvier-février 1964, **8**, 91-95.)

Kuper-Bignall and Luckcock. — A quantitive method of studying tumor cells in the blood. (*Cancer*, 1961, **1**, 852.)

Landell (N.E.), Silvan (A.) and Zajicek (J.). — Atypical cells in peripheral blood in 100 cases of mammary carcinoma and 100 controls. (*Acta Cytol.*, March-April 1963, **7**, 91-96.)

Long (L.), Jonasson (O.), Roberts (S.), Mac Grath (R.), Mac Grew (E.) and Cole (W.H.). — Cancer cells in the blood results of a simplified isolation technique. (*Arch. Surg.*, 1960, **80**, 910.)

Long (L.), Roberts (S.), Mac Grath (R.), Mac Grew (E.) and Cole (W.H.). — Cancer cells in the blood stream. (*Arch. Surg.*, 1960, **80**, 639.)

Long (L.) and Romsdahl (M.). — Cancer cells in the blood of patients with cancer. (*Society of Clinical Surgery*, Chicago, Ill., 1963.)

Mac Grew (E.), Romsdahl (M.) and Valaitas. — Differenciation of hematopoietic elements from tumor cells in blood. (*Acta Cytol.*, novembre-décembre, 1962, **6**, 551-553.)

Maki (T.S.), Majima (K.). — Cancer cells dissemination during surgical manipulation. (*Tohoku J. Exp. Med.*, 1963, **79**, 319-333.)

Malmgren (R.A.), Pruitt (J.D.), Delvecchio (P.R.) and Potter (J.F.). — Method for cytologic detection of tumor cells in whole blood. (*J. Nat. Cancer Inst.*, 1958, **20**, 1203.)

Moore (C.E.), Sandberg (A.A.), Burge (E.M.), Johnson (R.) and Katz (A.D.). — Tumour cells in the blood and body cavity associated with malignancy of the lung and gastro-intestinal tract. (*Surg. Forum*, 1958, **8**, 152.)

Moore (G.E.) and Sako (K.). — The spread of carcinoma of the colon and rectum : a study of invasion of blood vessels, lymph nodes and the peritoneum by tumor cells. (*Dis. Colon. Rectum*, 1959, **2**, 72.)

Moore (G.E.), Sandberg (A.A.) and Watne (A.L.). — Spread of cancer cells and its relationship to chemotherapy. (*J.A.M.A.*, 1960, **172**, 1729.)

Moore, Sandberg and Schubarg. — Clinical and experimental observations on the occurrence and fate of tumor cells in the blood stream. (*Ann. Surg.*, 1957, **146**, 580.)

Nedelkoff (B.), Christopherson (W.H.) and Harter (J.S.). — A study of abnormal cells in the peripheral circulation of patients with lung cancer. (*Acta Cytol.*, 1962, **6**, 4.)

Nickell (D.F.) and Dockerty (M.B.). — The five year survival rate in cases of completely destructing annular carcinoma of the descending colon and sigmoid. (*Surg. Gynec. Obst.*, 1948, **87**, 517.)

Potter (J.F.) and Malmgren. — A new technique for the detection of tumor cells in the blood stream and its application to the study of the dissemination of cancer. (*Surgical Forum : Clinical Congress*, 1958, **9**, 580.)

Potter (J.F.), Langenbaugh (G.), Dillon (J.), Ransdahl (M.) and Malmgren. — The relationship of tumor type and respectability to the incidence of cancer cells in the blood. (*Surg. Gynec. Obstet.*, 1960, **110**, 734.)

Pruitt (J.C.), Hilberg (A.W.), Morehead (R.) and Mengoli (H.F.). — Quantitative study of malignant cells in local and peripheral circulating blood. (*Surg. Gynec. Obstet.*, 1962, **114**, 179.)

Raker (J.W.), Taft (P.D.), Edmonds (E.). — Significance of megakaryocytes on the search for tumor cells in the peripheral blood. (*New England M.J.*, 1960, **63**, 663.)

Reis (R.). — Demonstration of carcinoma cells in the blood stream. (*J.M.T. Sinaï Hosp.*, 1959, **26**, 171.)

Roberts (S.), Watne (A.), Mac Grath (R.), Mac Grew (E.) and Cole (W.H.). — Technique and results of isolation of cancer cells from the circulation blood. (*A.M.A. Arch. Surg.*, 1958, **76**, 334.)

— The response of cancer cells in the circulating blood to surgical stress and chemotherapy. (*Surg. Forum*, 1959, **9**, 595.)

Robinson (K.P.), Mac Grath (R.) and Mac Grew (E.). — Circulating cancer cells in patients with lung tumors. (*Surg.*, May 1963, **53**, 630-636.)

Romsdahl (M.M.), Mac Grath (R.) and Mac Grew (E.). — Effect of cancer chemotherapy on cellular elements of the blood. (*Surg. Forum*, 1962, **13**, 106-108.)

Ryall (C.). — The technique of cancer operations with reference to the danger of cancer dissemination. (*Brit. Med. J.*, 1908, **2**, 1005.)

Sakurai (M.), Klassen (K.P.) and Selbach (G.). — The presence of malignant cells in the blood stream of patients with carcinoma of the lung. (*Trans. Int. Soc. Cyt. Council*, 192.)

Sandberg (A.A.) and Moore (C.E.). — Examination of blood for tumour cells. (*J. Nat. Cancer Inst.*, 1957, **19**, 1.)

Sandberg (A.A.), Moore (J.E.), Grosswhite (L.H.) and Schubarg. — The frequency of tumor cells in the bone marrow and blood. (*Cancer*, 1958, **11**, 1180.)

Sandberg (A.A.), Moore (G.E.) and Schubarg. — Atypical cells in the blood of cancer patients, differenciation from tumor cells. (*J. Nat. Cancer Inst.*, 1959, **3**, 555.)

Sandberg (A.A.) and Moore (G.E.). — The frequency of tumor cells in the bone marrow and blood. (*Conference on peripheral blood cytology*, D.C., January 1962.)

Sato (H.). — Cancer cells in the circulating blood with references to cancer metastases. (*Bull. World Health Org.*, 1962, **26**, 675-681.)

Shackelford (R.T.), Wood (S.) and Boitnott (J.K.). — Primary sarcomas of the stomach. (*Amer. J. Surg.*, 1961, **101**, 292.)

Scheinin (T.M.). — Effect of surgery upon the occurrence of circulating malignant cells in lung cancer. (*Acta Chir. Scand.*, 1962, **124**, 287.)

— Pulmonary cancer and circulating cancer cells. (*Ann. Chir. Gynaec.*, 1962, **51**, 1.)

Scheinin (T.M.) and Koivuniemi (A.P.). — The occurrence of cancer cells in blood. (*Surgery*, 1962, **51**, 652.)

— Large benign cells in circulating blood and their significance in the identification of cancer cells. (*Cancer*, septembre-octobre 1962, **5**, 972-977.)

Seal (S.H.). — A sieve for the isolation of cancer cells and other large cells from blood. (*Cancer, May* 1964, **17**, 637-642.)

Sellwood (R.A.), Kupper (S.W.A.), Payne (P. Maud), Burn (J.J.). — *British Journ. of Surgery*, September 1969, **56**, n° 9, 649-652.)

Smetana (K.J.) and Kafka (V.). — The nucleolar coefficient of the lymphocytes in the peripheral blood of women with carcinoma of the genitalia. (*Folia Biol., Praha*, décembre 1962, **8**, 390-395.)

Stoffberg (A.M.). — The significance of the leucocyte concentrate in the demonstration of tumor cells in the blood. (*Acta Haem.*, Basel, février 1963, **29**, 05-79.)

Sunderland (D.A.). — The significance of vein invasion by cancer of the rectum and sigmoid a microscopic study of 210 cases. (*Cancer*, 1949, **2**, 429-437.)

Von Hamm (E.) and Selbach (G.). — Summary of blood studies in the comparative cytology report. (*Conference on Peripheral Blood Cytology*, Washington D.C., January 1962.)

Von Wust. — Uber das vorkommen von megakaryociten im Strömenden Blut. (*Folia Haematologica Neue Folge*, 1963, **8**, 1-4. 421-425.)

Watne (A.L.), Roberts (S.S.), Mac Grew (E.) and Cole (W.H.). — The occurrence of cancer cells in the circulating blood and their response to surgery and chemotherapy. (*Acta Un. Int. Cancer*, 1960, **16**, 790.)

IMPRIMERIE
R. FOULON & Cie
29, Rue Deparcieux, 29
PARIS (XIVe)